



TITLE:

# マウス乳腺腫瘍における放射性同位元素P32によるミクロラジオオートグラフの研究

AUTHOR(S):

三瀬, 真一

---

CITATION:

三瀬, 真一. マウス乳腺腫瘍における放射性同位元素P32によるミクロラジオオートグラフの研究. 日本外科宝函 1959, 28(7): 2782-2802

ISSUE DATE:

1959-08-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/206961>

RIGHT:

# マウス乳腺腫瘍における放射性同位元素 $P^{32}$ による ミクロラジオオートグラフの研究

京都大学医学部外科学教室第2講座（指導：青柳安誠教授）

三 瀬 真 一

〔原稿受付 昭和34年7月24日〕

## EXPERIMENTAL STUDIES ON MICRORADIOAUTOGRAPHY USING RADIOACTIVE PHOSPHORUS ( $P^{32}$ ) IN NEOPLASTIC DISEASES OF THE BREAST IN MICE

by

SHIN-ICHI MISE

From the 2nd Surgical Division, Kyoto University Medical School  
(Director: Prof. Dr. YASUMASA AOYAGI)

With the recent invention of the radioautograph based on the photosensitivity of radioisotopes various studies have come to be made on neoplastic tissues. As to the neoplastic diseases of the breast, many reports have already been given on the diagnostic application of  $P^{32}$ , but no detailed studies, using microradioautographs in humans, have yet been reported. This is because a large amount of  $P^{32}$  is necessary in order to take radioautographs of the tissues and there is a limit to the use of  $P^{32}$  in human beings.

In the present experiment radioactive phosphorus ( $P^{32}$ ) was injected into mice with neoplastic diseases of the breast, and sections of the mammary tissue were removed. After being microradioautographed by the contact method, one of two adjacent sections was stained with hematoxylin-eosin, while the other was stained with pyronin-methylgreen. The microradioautographs were then compared, on the one hand, with the histological findings of the hematoxylin-eosin stained sections in order to observe which cells had gathered more  $P^{32}$ , and on the other, with those of the pyronin-methylgreen stained sections so as to see the relation between the radioautographs and the activity of cells... the relation between the amount of  $P^{32}$  and nucleic acid.

The results are as follows:

(1) The tissue of the mammary gland of a mouse in the resting stage had a small quantity of  $P^{32}$  around the mammary ducts scattered in the fat tissue. During pregnancy, however, it contained a large amount of  $P^{32}$  gathered locally in the epithelia of the increased number of mammary ducts and during lactation a larger amount in the epithelial cells of the enlarged acini.

(2) In the regressive stage after lactation, there was much  $P^{32}$  in the tissue into which round cells had infiltrated in large numbers.

(3) No marked difference in the amount of  $P^{32}$  taken up by the lymph gland draining normal mammary glands was observed throughout the period of examination, no matter what the stage pregnancy, lactation, or regression.

(4) The epithelial cells where great mastopathy-like changes had developed were found to have gathered a larger amount of  $P^{32}$  than those during pregnancy, but a smaller amount of it than cancer tissue or metastatic lymph glands.

(5) In cancer tissue the more cancer cells were present, the more  $P^{32}$  accumulated, while in the connective tissue scarcely any  $P^{32}$  was observed.

(6) Immature cancer tissue was likely to collect more  $P^{32}$  than mature tissue such as adenocarcinoma.

(7) There was much  $P^{32}$  in the cancer cells whose nuclei were rich in chromatin.

(8) When cancer cells were large with large nuclei, they took up more  $P^{32}$  than when they were small with small nuclei.

(9) Regardless of maturity or density of cancer cells, a large amount of  $P^{32}$  was taken up by fields where cancer cells were more sensitive to pyronin or methyl-green, that is, where RNA or DNA had increased and metabolism and nuclear division had become active.

(10) Much  $P^{32}$  was taken up by the outer part of the mammary cancer, or by some other tissues where cancer cells were found to be infiltrating... the surrounding of the tumor itself, or its neighbouring fat tissue.

(11) Scarcely any  $P^{32}$  was recognized in the necrotic field of the cancer.

However, in the outer part of those cancer cell nests whose central parts had become necrotic, cancer cell rich in chromatin collected an especially large amount of  $P^{32}$ .

## 緒 言

天然放射性同位元素を用いて生体内物質代謝の研究を初めて行つたのは Hevesy (1923) であるが、その後、Lawrence (1934) による Cyclotron の発明以来多数の人工放射性同位元素が作られるようになり、これらの放射性同位元素の医学領域における応用も盛んになつて来た。特に乳腺については Marinelli (1942) が  $P^{32}$  を乳癌患者に注射し化学的測定方法によつて  $P^{32}$  が癌組織に多量集積する事実を発表し、この事実を Low-Beer は 1946 年初めて乳癌患者の診断に応用した。最近では放射性同位元素のフィルム感光性を利用して腫瘍組織のラジオオートグラフの研究が行われるようになったが、 $I^{131}$  を使用した甲状腺のラジオオートグラフの研究に比べると、 $P^{32}$  を使用したラジオオートグラフの研究は少ない。最初に  $P^{32}$  を用いてラジ

オオートグラフを作製したのは Groven Govaerts 及び Guében であつて、我国でも中山等 (1955) が  $P^{32}$  によるラジオオートグラフを人体消化管癌の診断に利用した。ところで乳腺腫瘍に関しては、 $P^{32}$  を注射してガイガー計数器によつて悪性か否かの診断に応用した報告はあるが、そのマイクロラジオオートグラフの詳細な報告は未だ見当らない。これは  $P^{32}$  を人体に投与して乳腺腫瘍のマイクロラジオオートグラフを作製するには相当多量の  $P^{32}$  を必要とするため、その副作用のあらわれる危険があるからであらう。そこで私は、まずマウス乳腺腫瘍について  $P^{32}$  によるマイクロラジオオートグラフを作製し、組織学的に  $P^{32}$  が果して如何なる細胞に多く分布しているか、また細胞の活動状態とラジオオートグラフの所見との間に如何なる関係があるかを目的で核酸染色を行い、核酸と  $P^{32}$  摂取との関係を検査した。

## 第1章 実験方法

I. 実験動物: 使用した動物はすべて京大動物センターより供給を受けた dd 系マウスで次の各群に分けて実験を行った。

- 1) 妊娠前, 妊娠中, 授乳中及び授乳中止後の退縮過程期のマウス乳腺。
- 2) 毎回出産後, 5日間授乳させた後に突然離乳させたマウスの乳腺。
- 3) 生後約30日の未成熟雌マウスに 12.5mg Estradiol ベレットを50日毎に3回鼠脛部に埋没したマウスの乳腺。
- 4) 自然に発生したマウスの乳腺。

II.  $P^{32}$  の投与方法及び投与量: 使用した  $P^{32}$  は英国原子力公社から日本原子力局アイソトープ課を通じて入手したもので, 正磷酸塩の稀塩酸溶液として送られてきたものである。これを生理的食塩水で希釈し, マウス1匹につき  $P^{32}$  30 $\mu$ c を大臀部の皮下に注射した。

III. 乳腺剔出時期:  $P^{32}$  注射後20時間目にそのマウスを石炭ガスで中毒死せしめて乳腺を剔出した。

IV. 組織切片標本及びマイクロラジオオートグラフの作製方法:  $P^{32}$  の半減期は14.3日で比較的短かく, しかも  $P^{32}$  による直接の組織変化を少なくするために, 可及的少量の  $P^{32}$  を使用したので,  $\beta$ 線によるフィルム感光能が比較的小であるために, 出来得る限り速かに組織切片標本作製し, 原子核乾板に露出せしめるようにつとめた。組織片を固定するのにホルマリンでは  $P^{32}$  の脱出が大きいので不適であり, しかも同一組織でヘマトキシリン・エオジン染色及び核酸染色を行なうのに便利のため剔出した乳腺又は腫瘍組織を約3mmの厚さに切り出し Carnoy 液にて固定, パラフィン包埋の後, 厚さ  $8\mu$  の組織切片標本作製したが, 切片標本の厚さがマイクロラジオオートグラフの黒化度に極めて大きな影響があるので, 切片標本の厚さはすべて  $8\mu$  に統一した。組織切片中に含まれる還元物質の直接の接触によつてフィルムが感光する部分もあるので, この現象を防ぐため, この切片標本をセロイジンの1%エーテル・アルコール溶液中に浸漬して隔膜を作り, 原子核乾板上に密着させて黒紙で包み, 所謂 contact method によりマイクロラジオオートグラフを作製, 露出時間中は約  $5^{\circ}\text{C}$  以下の低温, 低湿に保つて, 3週間目に露出を終り, 乾板はX線フィルム現像液 R60 現像した。マイクロラジオオートグラフ

の作製を終えた組織切片標本はエーテル・アルコールでセロイジンを除いた後, ヘマトキシリン・エオジン染色を行い, 他方同一組織片の連続切片中, 隣接した切片について核酸染色 (ピロニン・メチルグリーン染色) を行つて核酸と  $P^{32}$  の分布の関係を比較検討した。上記 contact method に対し, stripping method も亦試みたが, 感光膜の伸縮による像のずれや, 現象過程で多少の脱色は不可避であるため, 本研究には適当ではなかつたので結局専ら contact method を利用したのである。

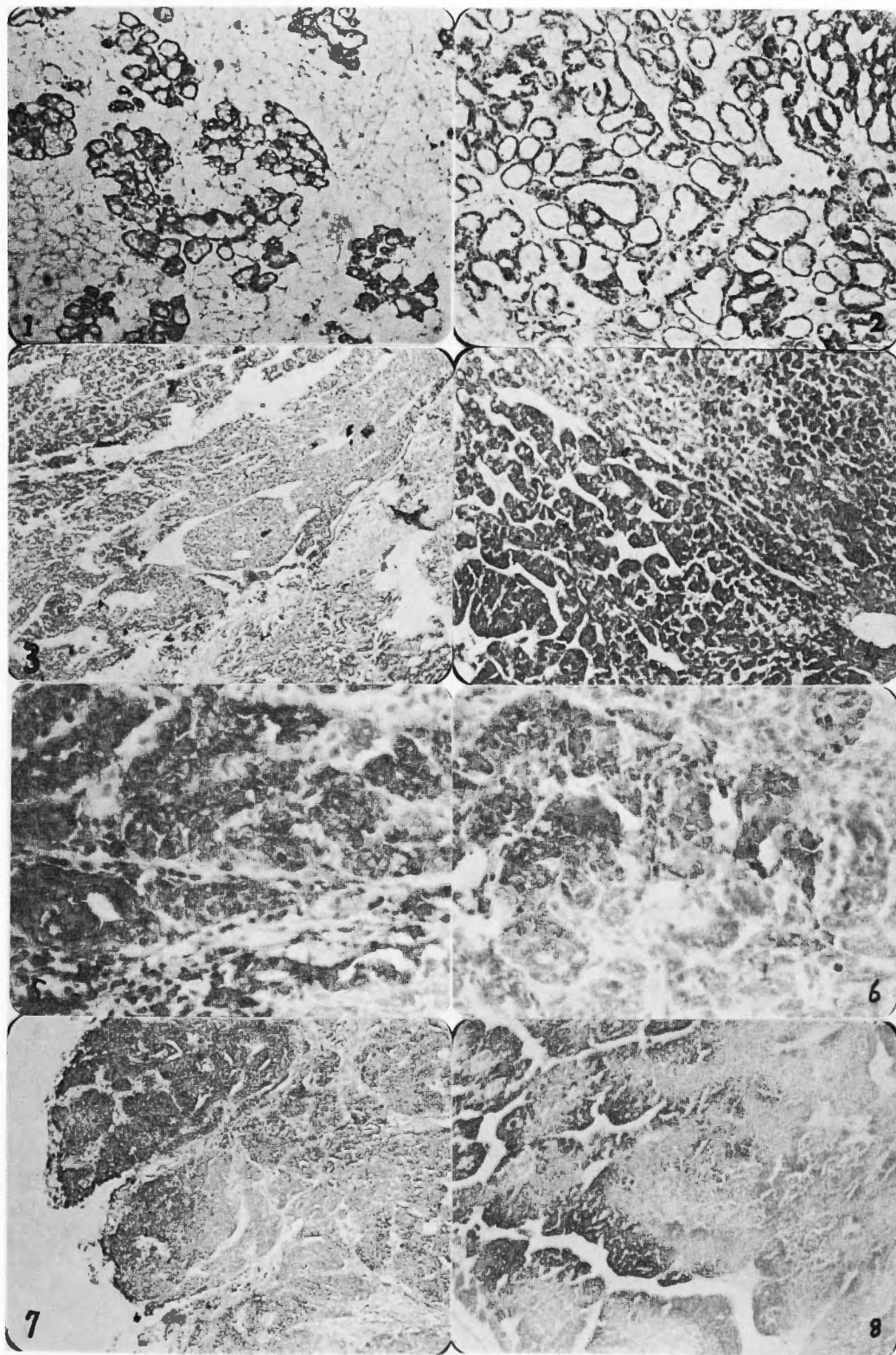
V. 検索方法: 健常マウス乳腺組織及びマウス乳腺腫瘍組織のヘマトキシリン・エオジン染色による組織所見と, それぞれのマイクロラジオオートグラフ並びにその隣りの切片の核酸染色標本について, 細胞の性状,  $P^{32}$  の摂取状態, 核酸の分布, 染色度等を比較検討した。

ラジオオートグラフにおける黒化の程度は標本の厚さ, 露出時間, 現像法その他種々の条件によつて可成り変動があるので, 出来得る限り之等の諸条件を一定にするように努めたが, 標本の作製時期が異なる場合には, 多少黒化度に差異が生ずるのを避け得ない。そこで私は, 黒化度を同一条件下に量的に示すために顕微鏡下で組織中の一定面積 (60 $\mu$  平方) につき, 黒化した銀粒子数を測定し, これと乾板の空白部に於ける銀黒化粒子数との比を求めた。しかし原子核乾板は粒子が非常に小さいので確実な数値を求める事は極めて困難な例もあり, 数値はあくまで概算値である。そして之等の値を考慮することによつて露出時間, 現像等の各条件の差による誤差を或る程度除去することが出来た。

## 第2章 健常マウス乳腺

### I. 組織像とマイクロラジオオートグラフとの関係

1) 未経産マウスの乳腺: 教室の越 (1958) によれば, 生後20~30日の幼弱マウスの乳腺は乳管から細い乳管が数本出ている程度であつて腺葉は形成していない。そして生後50日目になると乳管が延びてその末端が蕾状にふくらんで来るが, この時期の状態を組織切片標本でみると脂肪組織中に乳管が点々と散在している程度であつて, またマイクロラジオオートグラフをみると脂肪組織には殆んど黒化が認められず, 只, 散在する乳管上皮に相当して, わずかに薄い黒化を認めるに過ぎない。マウスの生理的な乳腺の発育が完成すると考えられる生後3カ月目, 及びそれ以後の成熟マウ



## 附 図 の 説 明

- 図 1 妊娠後期マウス乳腺の組織切片標本 核酸染色  $\times 100$  乳管上皮細胞のピロニン好性物質の分布並びに染色度は増加している。
- 図 2 授乳中のマウス乳腺組織切片標本 核酸染色  $\times 100$  拡大した acinus の上皮細胞には更に極めて著明に増加している。
- 図 3 マウス乳癌の組織切片標本 核酸染色  $\times 100$  一様に単純癌様構造であるがピロニン好染顆粒の増加した部と少い部とがある。
- 図 4 マウス乳癌の組織切片標本 核酸染色  $\times 100$  腺癌（左下方），と単純癌様構造（右上方）の部とが混在しているが腺癌の部の細胞の方にピロニン好染顆粒が増加している。
- 図 5 マウス乳癌の組織切片標本 核酸染色  $\times 400$  腺癌で癌細胞にピロニン好性特質の分布並びに染色度の増加している部分。
- 図 6 マウス乳癌の組織切片標本 核酸染色  $\times 400$  図 5 と同一標本で同じ腺癌でもピロニン好染顆粒の少い部分。
- 図 7 マウス乳癌の組織切片標本 核酸染色  $\times 100$  乳癌組織の辺縁部にピロニン好性物質の分布並びに染色度の増加が認められる。
- 図 8 マウス乳癌の組織切片標本 核酸染色  $\times 100$  壊死巣に接して核の不鮮明な退行変性に陥った細胞群が輪状に取りまき，更にその外層に核のクロマチン豊富な細胞群が見られるが，この部にのみピロニン顆粒は強染性に多数出現している。



第1図 (a) 未経産正常マウス乳腺  
(生後3カ月目)の組織切片標本  
H. E.



第1図 (b) 同上のマイクロラジオオー  
トグラフ  
乳管に一致して薄い黒化像を認める



第2図 (a) 妊娠後期マウス乳腺の  
組織切片標本  
H. E.



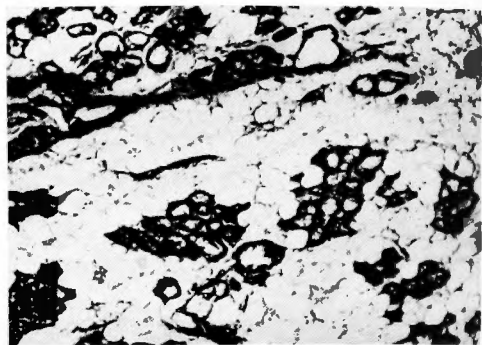
第2図 (b) 同上マイクロラジオオー  
トグラフ  
増殖しつつある乳管上皮に局限し  
て散在性に濃い黒化像を認める



でも未経産のものは第1図aのように矢張り脂肪組織中に乳管が散在している程度で、この時のラジオオートグラフも第1図bのように乳管上皮に相当した部に薄い黒化を認めるに過ぎない。

2) 妊娠時及び授乳時の乳腺：妊娠するとマウスの乳管は急速に増加して来る。妊娠後期になると乳管の増殖は更に著明となり第2図a, cのように腺小葉構造は完成して来るが、ラジオオートグラフにおいても第2図bのように増殖しつつある乳管上皮に局限して散在性に濃い黒化像を呈するようになる。

授乳中のものは第3図a, cのように acinus は拡大し、上皮細胞はうすくなり、肺胞様の組織像を呈し



第2図(c)

(a) の拡大

H. E.  $\times 100$



第3図(a) 授乳中のマウス乳腺組織切片標本

H. E.



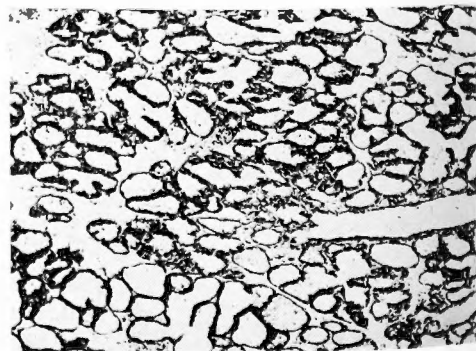
第3図(b) 同上マイクロラジオオートグラフ

拡大した acinus の上皮細胞に妊娠時より更に濃厚な黒化像を認める

てくるが、ラジオオートグラフは第3図bのように拡大した acinus の上皮細胞に妊娠時より更に濃厚に出現してくる。

3) 授乳中止後の乳腺：授乳を中止して乳腺が退縮に向う場合は、第4図a, cのように先ず腺小葉が減少し結合織と入れ代り、円形細胞浸潤の増加を来し、之が再び脂肪組織に入れ代るが、ラジオオートグラフでは第4図bのように退縮過程における円形細胞の出現部の方が乳腺上皮部よりも黒化度が大きい。すなわち円形細胞の浸潤の高度な所程  $P^{32}$  の摂取は高い。

またこの時期では結合織でも増殖の強い部にも  $P^{32}$  が摂取されている。この事は上皮細胞にかぎらず間質

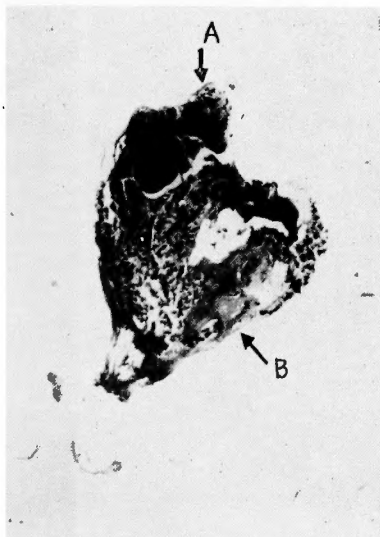


第3図(c)

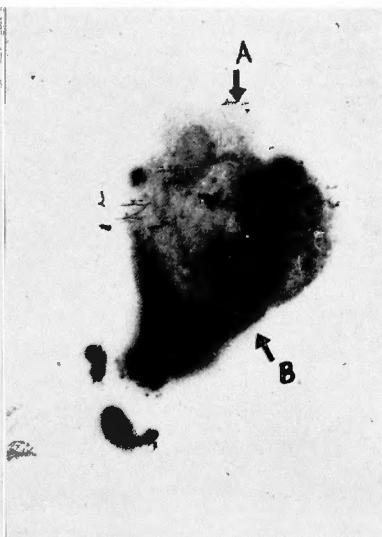
(a) の拡大

H. E.  $\times 100$

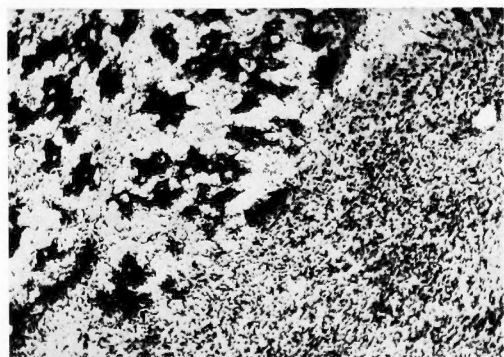




第4図 (a) 離乳後退縮期のマウス  
乳腺組織切片標本 H. E.  
矢印A部は乳腺上皮部  
矢印B部は円形細胞が高度に浸  
潤している部



第4図 (b) 同上マイクロラジオオー  
トグラフ  
乳腺上皮部より円形細胞の浸潤部  
の方に強い黒化像を認める



第4図 (c)  
(a) の拡大 H. E.  $\times 100$   
左上方 乳腺上皮  
右下方 円形細胞が浸潤している

の細胞でも増殖しつつある細胞には  $P^{32}$  が多量摂取されることを示している。

4) リンパ節及び乳腺組織周囲の筋肉：非活動期のマウス乳腺組織のリンパ節のラジオオートグラフは乳管や脂肪組織よりはるかに濃い黒化度を示すが(第1図 a, b), 妊娠中や授乳期の乳管上皮, acinus の上皮細胞に比べると薄い, (第2図 a, b) 及び(第3図 a, b). また退縮過程期におけるリンパ節も円形細胞浸潤部より薄い像を示す(第4図 a, b).

一方リンパ節自体の  $P^{32}$  の摂取態度を検討すると上

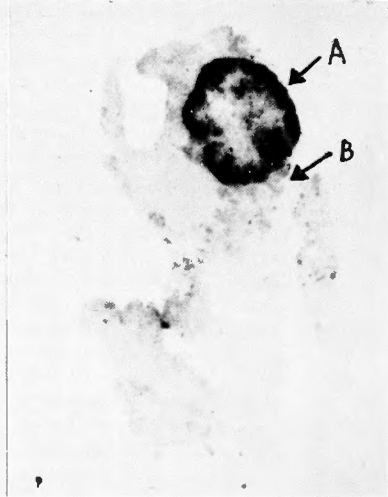
記各期のラジオオートグラフでは, リンパ節の部に出現する黒化像の程度に一見差があるようにみえるが, 一定面積につきリンパ節部と乾板の空白部との銀黒化粒子数を測定し, その比を求めると第1表のように上記の各期共にリンパ節そのものの  $P^{32}$  の摂取態度には余り著明な差は認めがたいということになる。

第1表 健常マウス乳腺リンパ節各期の黒化度比率  
(リンパ節銀黒化粒子数) — (空白部銀黒化粒子数)  
(空白部銀黒化粒子数)  
(60 $\mu$  平方)

時 期	例	比 率	平均比例
妊 娠 前	1	3.38	3.52
	2	4.12	
	3	3.18	
	4	3.41	
妊 娠 中 (後 期)	1	3.58	3.84
	2	4.16	
	3	3.86	
	4	3.76	
授 乳 期	1	3.34	3.58
	2	3.54	
	3	3.52	
	4	3.92	
授乳中止後 (退 縮 期)	1	3.40	3.43
	2	3.44	
	3	3.61	
	4	3.26	



第5図 (a) マウスのマストパチー様変化組織切片標本 H. E.  
矢印A部 強度のマストパチー様変化  
矢印B部 乳汁分泌中の乳腺上皮



第5図 (b) 同上ミクロラジオオートグラフ  
強度のマストパチー様変化の部は乳汁分泌中の乳腺上皮よりもはるかに濃厚な黒化像を示している

乳腺組織周囲の筋肉についてみると、筋肉には非活動期のマウス乳腺よりは  $P^{32}$  の摂取量が多く、またリンパ節、妊娠中及び授乳期の乳腺上皮よりは  $P^{32}$  の摂取が少ない。

## II. 核酸とラジオオートグラフとの関係

妊娠前のマウス乳腺組織標本の核酸染色を行うと、脂肪組織中に散在する乳管上皮細胞のピロニン好性物質の染色度は非常に弱く殆んど認められない程度であるが、妊娠後期になるとカラー写真1のように乳管上皮細胞及び腺胞上皮細胞のピロニン好染物質の増量は著明で、かつ、染色度も高くなり、更に授乳期に入るとカラー写真2のように acinus の上皮細胞には極めて著明に増加してくる。核のメチルグリン染色性の増強も認められる。

授乳中止後退縮過程になるとピロニン好性物質の染色度が低下し、分布も減少してくるが、浸潤しつつある円形細胞にはピロニン好染物質が明瞭に増加している。リンパ節には各期共に同程度にメチルグリンに好染性である。ピロニン好性物質並びにメチルグリン好性物質は夫々 RNA, DNA である事が推定されているものであるが、これらの出現程度は上記各期のラジオオートグラフと大体平行している。

## 第3章 マウス乳腺腫瘍



第5図 (c)  
(a) の拡大 H. E.  $\times 100$   
上方 マストパチー様変化  
下方 乳汁分泌中の乳腺上皮

## I. マストパチー様変化とミクロラジオオートグラフとの関係

マウスのマストパチー様変化の組織像は多種多様で極めて複雑である。散在性に軽度乳腺上皮の増殖の

みられる程度の軽度のマストパッチ様変化では、そのラジオオートグラフにおいても軽度に増殖した乳腺上皮に一致して薄い黒化を生ずるに過ぎない。

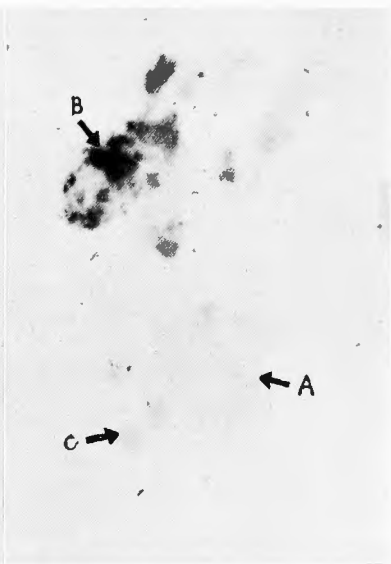
乳腺上皮、結合織の著しい増殖を示す強度のマストパッチ様変化の部は、第5図a, b, cにみられるように乳汁分泌中の乳腺上皮よりもはるかに濃厚な黒化像を

示している。

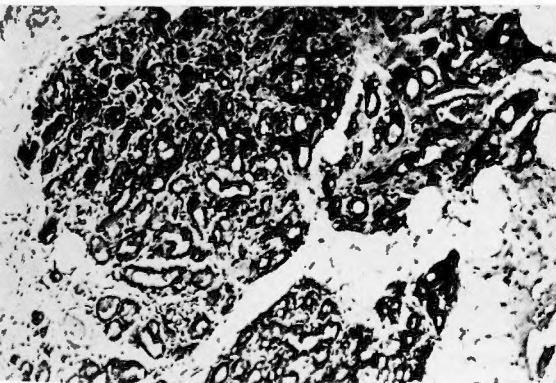
第6図a, bは乳癌、癌転移リンパ節及びマストパッチ様変化の像の混在する組織像並びにそのラジオオートグラフであるが、矢印Aのマストパッチ様変化の部は矢印Bの癌細胞部よりもその黒化度ははるかに薄く、また矢印Cの癌転移リンパ節よりも薄い。



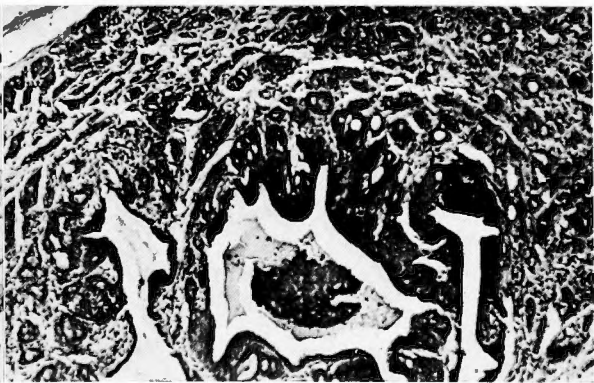
第6図(a) マストパッチ様変化、  
乳癌組織、癌転移リンパ節の混在  
したマウス乳腺組織像 H. E.  
矢印A部 マストパッチ様変化  
矢印B部 癌組織  
矢印C部 癌転移リンパ節



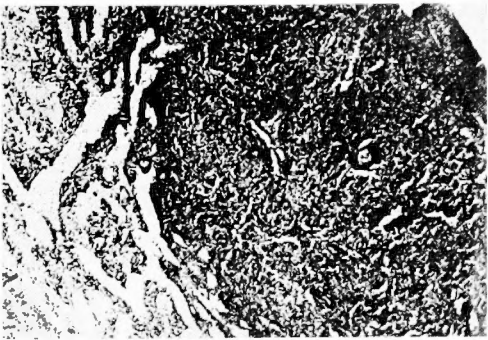
第6図(b) 同上マイクロラジオオー  
トグラフ  
マストパッチ様変化の部は癌組織  
よりも黒化度ははるかにうすく、  
また癌転移リンパ節よりもうすい  
像を示す



第6図(c)  
(a)の拡大(矢印Aの部)  
H. E.  $\times 100$   
マストパッチ様変化



第6図(d)  
(a)の拡大(矢印Bの部)  
H. E.  $\times 100$   
癌細胞部



第6図 (e)  
(a) の拡大 (矢印Cの部)  
H. E. ×100  
癌転移リンパ節

第2表 第6図各部の黒化度比率

部	位	銀黒化粒子数 (60 $\mu$ 平方)	比 率
空	白 部	224	1
マ	ストバチー様変化	704	3.15
癌	組 織	3072	13.73
癌	転 移 リ ン パ 節	1024	4.58

II. マストバチー様変化における核酸とマイクロラジオオートグララとの関係

軽度に乳腺上皮の増殖したマストバチー様変化の部も上皮細胞にピロニン顆粒が増加しているのが認めら

れる。しかし第5図の様な強度のマストバチー様変化及び乳汁分泌中の乳腺の混在する例では両部の細胞におけるピロニン好性物質の分布並びに染色度は共に増加しているが、ピロニン染色標本のみについて比較すると、マストバチー様変化の部と乳汁分泌中の乳腺の上皮細胞の間にはラジオオートグラフにおいてみられるような著明な差違は認められない。癌組織及びマストバチー様変化の両者混在する標本においては明らかに癌細胞群はマストバチー様変化の部の細胞に比べてピロニン好染顆粒の著明な増加を認めることが出来る。

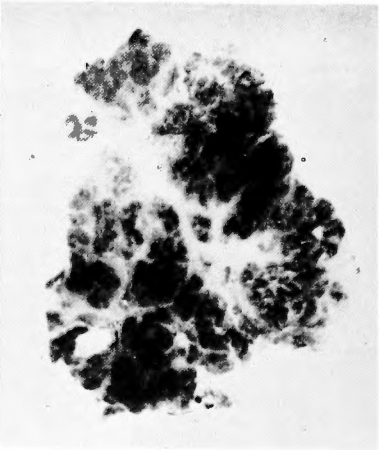
III. 乳癌の組織像とそのマイクロラジオオートグラフとの関係

1) 癌細胞の密集度とマイクロラジオオートグラフ：  
癌組織におけるマイクロラジオオートグラフの黒化度を左右する最も大きな因子は、既に中山等も指摘しているように癌細胞の密度と間質の量との比率に関与するのは勿論である。マウス乳癌組織の癌細胞の間には結合織が存在するが、本実験においても第7図a, bのように同一標本で、一定容積内で結合織に比べて癌細胞の分布が疎なる部分よりも密集度の大きな部程、ラジオオートグラフの黒化度は大であつた。

この事は人体の乳癌別出標本において、ガイガー・ミュラー計数器で測定してみると、結合織の非常に多い所謂硬性癌の場合はカウント数も低いが、結合織の少ない所謂髄様癌ではカウント数も非常に高い値を



第7図 (a) マウス乳癌の組織切片  
標本 H. E.



第7図 (b) 同上マイクロラジオオートグラフ  
癌細胞の密集度の大きな部が黒化度が大であり、間質には出現していない

示す事実と一致し、また癌細胞の認められない結合組織のみの部は黒化は殆んど認められず、癌組織の間質には殆んど  $P^{32}$  は摂取されていないというる。

更に周囲の正常筋肉組織も癌細胞部に比べると  $P^{32}$  の摂取は非常に少ない。

2) 癌細胞の分化度とマイクロラジオオートグラフ  
マウスの乳癌は所謂 Adenocarcinom の形のものが多く、比較的分化度の高い像を示しているものが多いが、Dunn はマウス乳癌を病理組織学的に、Type A

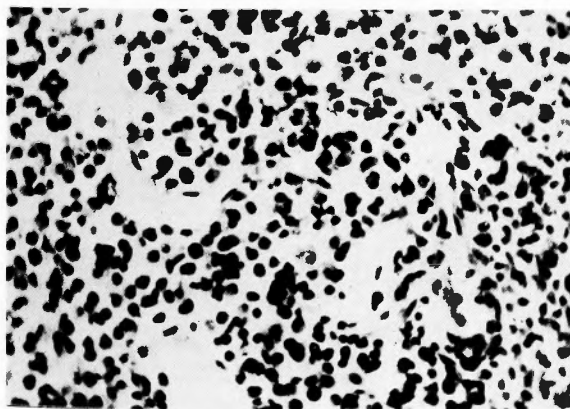
(Typical mammary tumor, Mammary adenocarcinoma, Alveolar carcinoma). Type B (Papillary cyst adenocarcinoma, Intracanalicular adenocarcinoma, Carcinoma simplex,). Type C (Fibroadenoma, Adenofibroma,). と分類している。しかし一枚の組織切片標本についてみても、部位的に細胞配列が一定しているものではなく、単純癌様構造、腺癌様構造、乳嘴状に増殖している部等の共存する場合もある。また同じ腺癌の標本でも、部位によつて腺腔の大小に相異のみ



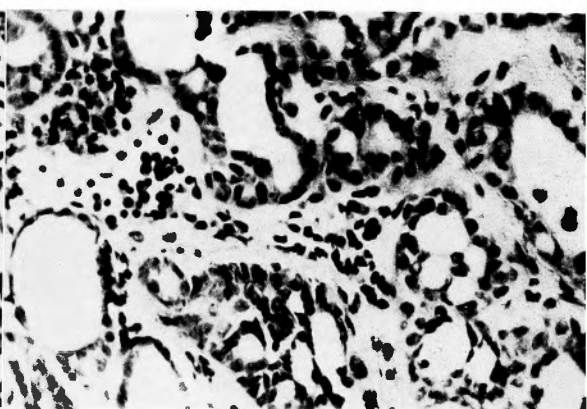
第8図 (a) マウス  
乳癌の組織切片標本 H. E.  
矢印A部 単純癌様構造  
矢印B部 腺癌  
矢印C部 乳嘴状囊腺癌



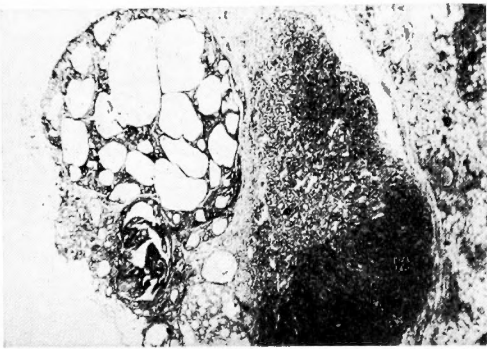
第8図 (b) 同上マイクロラジオオート  
グラフ  
単純癌様構造の部は腺癌や乳嘴状  
囊腺癌の部より強い黒化度を示し  
ている



第8図 (c)  
(a) の強拡大 (矢印Aの部)  
H. E.  $\times 400$   
単純癌様構造



第8図 (d)  
(a) の強拡大 (矢印Bの部)  
H. E.  $\times 400$   
腺癌



第8図 (e)  
(a) の拡大 (矢印A及びCの部)  
H. E. ×40

右方 単純癌様構造  
左方 乳嚢状囊腺癌

第3表 第8図各部の黒化度比率

部 位	銀黒化粒子数 (60μ 平方)	比 率
空 白 部	384	1
正 常 乳 腺 上 皮	960	2.50
腺 癌	1920	5.0
乳 嚢 状 囊 腺 癌	1984	5.94
単 純 癌 様 構 造	3968	13.33

られるものもあり、更に、同じ癌細胞の中でも胞体や核の大きさ、形態に多形性がみられ、また幼若より老化に至る種々の癌細胞が混在しているというように複雑である。併し癌細胞の分化度ということからみるとマウス乳癌における最も成熟した形は腺癌であり、最も未熟な形は単純癌様構造であつて、之をラジオオートグラフでみると、第8図 a, b のように単純癌様構造の部矢印Aは腺癌の部矢印Bよりもはるかに強い黒化度を示しているものが多い。また矢印A, Cのように単純癌様構造と乳嚢状囊腺癌との混在した標本においては、単純癌様変化の部はラジオオートグラフで強い黒化度を示している。

また同じ単純癌様構造の部においても特にクロマチンに富んだ若い癌細胞の部分程濃厚な黒化像を示している。

3) 個々の癌細胞について：個々の癌細胞の相違により黒化度に差を生ずることがある。例えば同じ腺癌でも胞体が大きく、且つ胞体内に比較的空胞を多く有する様な癌細胞群のところは、胞体の小さい細胞の密

集した細胞群のところよりも黒化度が大なる傾向がある。また癌細胞が大型で核の大きな細胞の部分程核が小さく小型の細胞の所より強く出現している。

IV. 乳癌細胞の核酸とミクロラジオオートグラフとの関係

一般に間質に比べて癌細胞の密なる部は、疎なる部分よりもピロニン好染顆粒の分布は増加している。また個々の癌細胞内におけるピロニン好性物質は、癌細胞の密なる部位は疎なる部位の癌細胞よりも濃染性であることが多いが、中にはかえつて疎なる部位の細胞の方に染色度の強い場合がある。これは将来旺盛な増殖を開始する能力を有することを示すものであろう。

未熟な単純癌様構造の部の癌細胞は、腺癌の部よりピロニン好性物質は分布並びに染色度と共に極めて著明に増加し、一方核のメチルグリン好染性も強い。このことは当然成熟した形の腺癌の部よりも未熟な形の単純癌様構造の部の癌細胞の方が発育が盛んであるためP<sup>32</sup>の摂取も多く、そのラジオオートグラフにも現われるものであろう。

しかし第9図aのように同一標本で構造は殆んど一様に単純癌様の変化を呈し、ヘマトキシリン・エオジン染色では殆んどその差を見出し得ないもの、即ち癌細胞が密集しているとか、単純癌様の傾向が強いとかという特徴がなくて第9図bのようにそのラジオオートグラフの濃淡に甚しい差の生じている事があるが、之を核酸染色で検すると、カラー写真3のようにその中にピロニン好染性の細胞集団があり、この部に一致してそのラジオオートグラフも濃厚な黒化像を示している。このことから細胞内の核酸が細胞分裂と密接な関係のある事を示している。

第4表 第9図各部の黒化度比率

部 位	銀黒化粒子数 (60μ 平方)	比 率
空 白 部	192	1
単純癌様構造でピロニン顆粒の少ない部	1856	9.61
単純癌様構造でピロニン好染顆粒の増加している部	2432	12.67

単純癌様構造の部と腺癌の部とが混在し、腺癌の部の細胞にピロニン好性物質の分布並びに染色度が共に著明に増加している例もあるが(第10図a, b)(カラー写真4)、このような例のラジオオートグラフでは矢張り腺癌の部に一致して濃厚な黒化度を示している。

また単純癌様構造、腺癌、乳嚢状に増殖している部

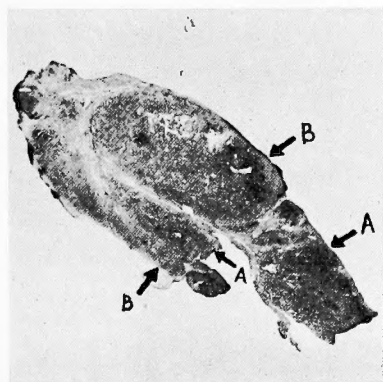




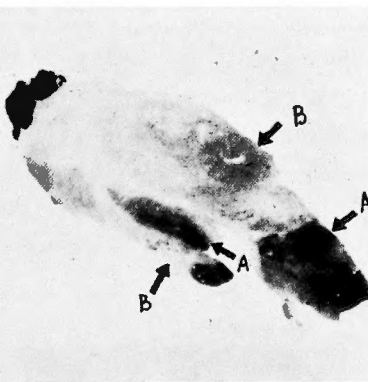
第9図 (a) マウス  
乳癌の組織切片標本 H. E.  
(組織像は一樣に単純癌様構造を  
示す)



第9図 (b) 同上マイクロラジオオー  
トグラフ  
(強い黒化像を示す部に一致して  
ピロニン好染性の細胞集団が多く  
存在していた)



第10図 (a) マウス乳癌の組織切片  
標本 H. E.  
(腺癌の部と単純癌様構造の部と  
が混在する)  
矢印A 腺癌  
矢印B 単純癌様構造



第10図 (b) 同上マイクロラジオオー  
トグラフ  
腺癌の部の方に濃厚な黒化像を示  
している (この部にピロニン好染  
顆粒が著明に増加していた)

第5表 第10図各部の黒化度比率

部 位	銀黒化粒子数 (60 $\mu$ 平方)	比 率
空 白 部	160	1
単純癌様構造でピロニン 好染顆粒の少い部	1092 1228	6.83 7.67
腺癌でピロニン好性物質 の染色度並びに分布が著 明に増加している部	3098 2970	19.36 18.56

とが混在していて、乳嚢状増殖の部の細胞は単純癌様構造の部と同程度にピロニン好染顆粒が多く出現している例もみられるがこの場合两部分共、同様に濃い黒化像を認め、ピロニン顆粒の少ない腺癌の部は極めて薄い黒化度を示すに過ぎない。

第11図 a, b のように一樣に同じ様な腺癌の構造を示す組織像でも、ラジオオートグラフに濃淡の甚しい差を認めることがあるが、その核酸染色ではカラー写





第11図 (a) マウス  
乳癌の組織切片標本 H. E.  
(同じ様な腺癌の構造を示している)



第11図 (b) 同上マイクロラジオオートグラフ  
同じ様な腺癌のみの組織像でも黒化の濃淡に甚しい差がある  
(濃厚な黒化像を示す矢印の部にはピロニン好染顆粒が増加している)

第6表 第11図各部の黒化度比率

部 位	銀黒化粒子数 (60 $\mu$ 平方)	比 率
空 白 部	184	1
腺癌でピロニン好染顆粒の少い部	1536	8.34
腺癌でピロニン好染顆粒の増加している部	3328	18.08

を示す部に相当する癌細胞群の方にピロニン好性物質の分布並びに好染度は増加している。

また同じ様に乳嘴様に増殖している部分でも黒化度の強い部の細胞程ピロニン好染顆粒は多く、核もメチルグリーン好染顆粒の増加が認められる。

第12図 a, b のように同様の組織構造を示しているにかかわらず、ラジオオートグラフでは特に乳癌の辺縁部に強い黒化度を示す傾向がよくあるが、このよう

真 5, 6 のようにラジオオートグラフで濃厚な黒化像



第12図 (a) マウス  
乳癌組織切片標本 H. E.



第12図 (b) 同上マイクロラジオオートグラフ  
乳癌の辺縁部が黒化度が人である

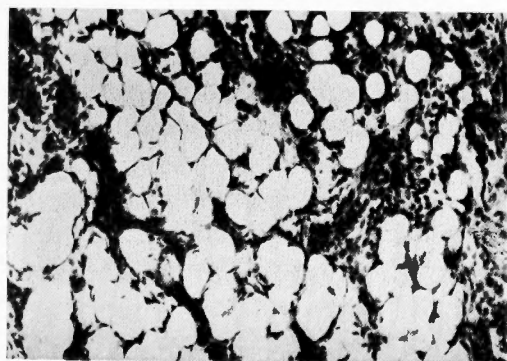


第13図 (a) マウス乳癌の組織切片  
標本 H. E.



第13図 (b) 同上マイクロラジオオート  
グラフ

癌細胞が脂肪組織内に浸潤しつつ  
ある所は黒化度が大きい (矢印  
の部)



第13図 (c)

(a) の強拡大 (矢印の部)

H. E.  $\times 200$

癌細胞が脂肪組織内に浸潤している

な場合では矢張りカラー写真7のようにその部の癌細胞に一致してピロニン好染顆粒が多く認められる。

癌細胞がその周囲の組織すなわち第13図 a, b, c のように周囲の脂肪組織内等に新たに浸潤しつつあると思われる個所は他の部に比べて組織学的に悪性度はそれ程高度ではなく、また癌細胞数も比較的少なく疎に配列するにかかわらずむしろ黒化度は濃く出る傾向がある。この場合矢張りこの部の癌細胞にはピロニン好染物質の染色度は増加している。

要するにピロニン好染物質と  $P^{32}$  摂取部位が一致しているのである。

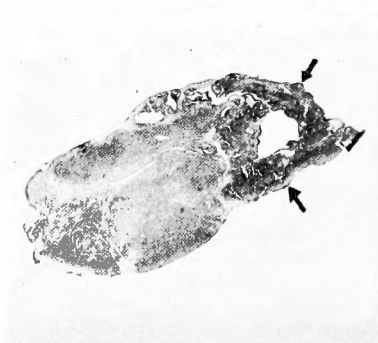
## V. 壊死部について

癌細胞はその不均衡な発育により屢々壊死に陥っているが、この部には活動性の癌細胞は殆んどないので  $P^{32}$  の摂取は殆んど行われず、ラジオオートグラフでも黒化は極めて軽度である。併し第14図 a, c のように癌細胞巢の中心が壊死に陥り、その壊死部の周りの核のクロマチンの多い癌細胞の部には第14図 b のように特に濃く出る傾向があるようである。壊死の部にピロニン顆粒の出現をみないことは勿論である。組織学的に壊死巣に接して核の不鮮明な退行変性に陥った細胞群が輪状に取りまき、更にその外層には核のクロマチン豊富な活潑な細胞層がみられるが、ラジオオートグラフではこの最後の細胞群で濃厚な黒化度を示し、核酸染色においても同様でカラー写真8のようにクロマチンの多い細胞層にのみピロニン顆粒は強染性に多数出現しており、ラジオオートグラフと核酸染色所見は略一致している。

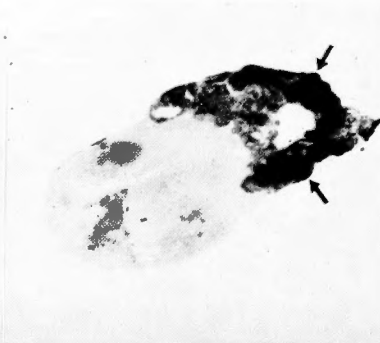
## VI. その他の部分のマイクロラジオオートグラフについて

腺腔内や囊腫内には  $P^{32}$  の摂取は認められない。

出血部は  $P^{32}$  の注射後すでに20時間を経過しているのでラジオオートグラフでも殆んど出現をみないが、注射後3時間で剔出したマウス乳腺の組織切片標本の

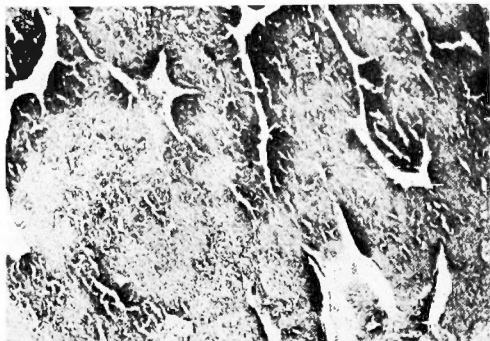


第14図 (a) マウス乳癌組織切片標本 H. E.



第14図 (b) 同上マイクロラジオオートグラフ

壊死巣の周りのクロマチン豊富な細胞群に特に濃厚な黒化像を示す



第14図 (c)  
(a) の拡大 (矢印の部)

H. E.  $\times 100$

壊死巣に接して不鮮明な退行変性に陥った細胞が輪状に取りまき、更にその外層に核のクロマチン豊富な細胞群がみられる

出血部にはかなり強い黒化像を示しており、この時期には血液中に未だかなりの量の  $P^{32}$  の存在する事が認められる。

急性炎症性の細胞浸潤の著明な部には非常に濃厚な黒化像を示すが、この事は Low-Beer 等が報告し、またわれわれが、臨床的に経験したようにカウント数測定においても急性炎症部は著明に増加する事実とよく一致している。

これはこの部の細胞は新陳代謝が旺盛なためであろう。

### 総括並びに考案

I. マウス乳腺の発育過程において妊娠前の組織像は脂肪組織中に乳管が散在している程度で、そのラジオオートグラフの黒化像も乳管上皮に一致してごく薄

く出現するに過ぎないが、妊娠後期になると増殖しつつある乳管上皮に局限して散在性に濃く出現し、授乳中のものは拡大した acinus の上皮細胞に更に一層濃く出現してくる。乳腺上皮機能を知る指標として核酸染色所見は重要なものであるが、利田等 (1950) は非活動期牝豚の腺上皮細胞に既に RNA の相当量を認めると報告し、また西村 (1958) は家兔の組織化学的所見によつて、更に鶴上 (1951) や Turner 等 (1953) はマウス乳腺の RNA, DNA 定量により、また清水 (1953) はマウス乳腺の組織化学的所見及び定量によつて、妊娠時には RNA, DNA は著明に増加し、授乳期には更に増加し、離乳時以後は急減すると述べている。ところで妊娠時及び授乳時に於て核酸染色所見で、乳管上皮細胞, acinus の上皮細胞に RNA を示すピローン好性物質の染色度並びに分布の増加を示し、その部に一致してラジオオートグラフに強い黒化像を認めたことは、新陳代謝の盛んな細胞集団の部に  $P^{32}$  が多量に摂取されることを裏書きしているものである。また他方、正常乳腺の活動は以上のラジオオートグラフ及び核酸染色所見から妊娠前期より徐々に活発になりはじめ、妊娠後期及び授乳中に最高となり、以後衰退して行くことを明確に窺い知ることが出来る。

マウス乳腺におけるリンパ節自体の  $P^{32}$  摂取態度は非活動期、妊娠中、授乳期、離乳後退縮過程期共に著明な差異は認められない。これを核酸染色所見と比べてみると、各期のリンパ節共に大体メチルグリーン好染顆粒の好染状態も略同様であつて核酸と  $P^{32}$  摂取が大体平行している。

II. マストバチー様変化のラジオオートグラフは、その変化の程度によつて黒化度に差がある。軽度のマ

ストパチー様変化はそのラジオオートグラフも薄い像であるが、強度のものでは更に強い黒化度を示し、ピロニン好染顆粒も増加している。癌組織とマストパチー様変化の共存する場合には癌細胞の方がピロニン好性物質の分布並びに染色度も圧倒的に増加しており、ラジオオートグラフでも濃厚な黒化像を示している。組織像の悪性度の高いもの程  $P^{32}$  の摂取は強いことが考えられる。すなわちマストパチー様変化は乳癌よりもラジオオートグラフ、核酸染色共に一般に所見が軽度である。強いマストパチー様変化を有するものは正常乳腺の如何なる場合よりも  $P^{32}$  摂取や、ピロニン染色性が共に高度であり、之に反して軽度のマストパチー様変化を有するものは妊娠や授乳期における所見よりもむしろ弱い。

すなわちマストパチー様変化を有する乳腺の新陳代謝はその変化の程度によつて差異があるということが出来る。

Ⅲ. 癌細胞について Caspersson 等 (1941) (1942) は DNA は核分裂に関与し細胞分裂の盛んな際には DNA は著明に増加すると述べ、RNA は細胞の新陳代謝に関係ある物質とされているが、中山等は摘出消化管癌腫につき核蛋白の分層を測定し、何れの分層でも癌組織は非癌組織より  $P^{32}$  を多量摂取しており、特に DNAP $^{32}$ , RNAP $^{32}$  は癌組織では増加を示し核分裂及び新陳代謝が異常に亢進していると述べている。

小林 (1956) も剔出乳腺腫瘍組織の磷代謝について検索し DNAP $^{32}$ , RNAP $^{32}$  共に良性腫瘍より癌腫の方にその含有量が多いと報告している。

中山等 (1956) は  $P^{32}$  を用い、人体消化管癌腫剔出標本についてマイクロラジオオートグラフを作製し、核分裂に富む部分、核はクロマチンに富み核酸染色に濃染する部分、原形質に比べて核の大きい所、発育が限局性で髄様癌の発育をする所、退化変性の少ない所、円形細胞の浸潤の高度な所程  $P^{32}$  の摂取が高いと報告している。私はマウス乳癌の組織切片標本とそのマイクロラジオオートグラフとを比較検討したが、癌細胞が密集している部分程ラジオオートグラフは濃厚な黒化度を示し、間質には  $P^{32}$  の量は極めてわずかであつた。癌細胞の分化度についても成熟した形の腺癌の部分よりも未熟な傾向の強い癌細胞の部程黒化度は強い。

そしてこれらを核酸染色で検討すると、一般に癌細胞の疎なる所よりも密集した所の方に、その数に応じてピロニン好染顆粒の分布が増加し、また腺癌の部の細胞よりも未成熟な形の単純癌様構造の部の癌細胞の

方にピロニン好性物質の分布が多く染色度も増加し、またこの部分の細胞に核のメチルグリン強染性を認めるのが普通であり、ラジオオートグラフも之に応じた黒化の状態を示している。併し、ラジオオートグラフに著しい濃淡の差がありそのヘマトキシリン・エオジン染色標本では癌細胞の密集度とか、細胞の成熟程度のみでは説明の困難なことがあるが、之を核酸染色で検討するとラジオオートグラフで濃厚な黒化像を示す部に一致した癌細胞群はピロニン好性物質の分布並びに染色度が他の部に比べて増加している。このことはヘマトキシリン・エオジン染色のみによる形態学的検査法では把握出来ない癌細胞の悪性度、新陳代謝の旺盛度を検索する上に有力な方法と思われる。一般にピロニン好性物質及びメチルグリン好性物質は夫々 RNA, DNA と推定されているが、RNA は細胞の新陳代謝に関与し、DNA は核分裂のみに関与すると云われる物質であり、ピロニン好性物質並びにメチルグリン好性物質の分布や染色度が著明に増加している癌細胞は、新陳代謝や細胞分裂が盛んで発育旺盛な活動の著しい細胞であり、その部のラジオオートグラフも濃厚な黒化度を示し  $P^{32}$  の摂取が異常に高いことが如実に窺えるのである。

Caspersson 等 (1942) によれば腫瘍のように早く成長する組織では当然蛋白の合成が盛んに行われ、したがつて細胞内核酸量も多い。この形の細胞を A 細胞とすると、これは栄養条件の良いとき、例えば癌細胞巢の外部、或いは血管の周囲、さらに組織内に侵入している細胞などはそれであつて、また A 細胞以外に、蛋白の合成も RNA の合成もそれほどではない細胞即ち B 細胞もみられるのである。その極端な例は壊死に陥つた細胞であるが、A 細胞は B 細胞に移行しうるのである。乳癌の辺縁部や、癌細胞が周囲の組織即ち脂肪組織内などに新たに浸潤発育して行きつつあると思われる部は、ピロニン好染顆粒が多く、染色度も増加しているのは興味ある所見である。Caspersson 等も述べているように、この部の癌細胞は栄養条件がよく、発育旺盛で活動が盛んに行われている細胞と考えられるが、この部はラジオオートグラフでも濃い黒化度を示している。

癌細胞巢の中心が壊死に陥り、その周囲のクロマチンに富む細胞群にピロニン好性物質の増量が著明で、且染色度も高くなつている例もあるが、ラジオオートグラフでも之に一致して特に濃厚な黒化像を示している。此の事実から壊死の周りの細胞群は、一時的に比

較的細胞活動が盛んになつて  $P^{32}$  の摂取も高くなるものと考えられて興味深い。

## 結 論

健常マウス乳腺組織及びマウス乳腺腫瘍組織を対象とし、ヘマトキシリン・エオジン染色による組織所見と、それぞれのミクロラジオオートグラフ並びにその隣りの切片の核酸染色標本とを比較検討し次の結果を得た。

1) 非活動期のマウス乳腺組織切片標本では脂肪組織中に散在する乳管の上皮細胞にごくわずかの  $P^{32}$  を摂取するに過ぎないが、妊娠中は増殖しつつある乳管上皮に限局して多量の  $P^{32}$  を摂取し、授乳中は拡大した acinus の上皮細胞に妊娠時より更に多量の  $P^{32}$  を摂取する。

2) 離乳後退縮期においては円形細胞の浸潤の高度の所には強く  $P^{32}$  を摂取する。

3) 健常乳腺のリンパ節の  $P^{32}$  摂取態度は非活動期、妊娠時、授乳時、退縮期を通じて大きな差異は認められない。

4) 強度のマストパチー様変化は乳汁分泌中の乳腺上皮よりは強く  $P^{32}$  を摂取するが、癌組織及び癌の転移リンパ節よりはその摂取程度は弱い。

5) 癌組織では間質に比べて癌細胞の密集度の大なる部分程  $P^{32}$  はよく摂取され、間質には  $P^{32}$  は殆んど摂取されない。

6) 成熟した形の腺癌の部より未成熟な傾向の強いもの程  $P^{32}$  の摂取は強い。

7) 核がクロマチンに富んだ弱若な癌細胞の部は  $P^{32}$  の摂取が高い。

8) 同じ腺癌でも胞体が大きく、且つ胞体内に比較的空胞を多く有する様な癌細胞群のところは、胞体の小さい細胞の密集した細胞群のところよりも  $P^{32}$  の摂取は多く、また細胞が大型で核の大きなものは核が小さく小型の癌細胞よりもよく  $P^{32}$  を摂取する。

9) 癌細胞の密集度、あるいは成熟程度等に関係なく、癌細胞のピロニン好性物質の分布並びに染色度やメチルグリーン染色度が増加している部分、すなわち RNA, DNA が増加し細胞の新陳代謝や核分裂の盛んな部分は多量の  $P^{32}$  を摂取する。

10) 乳癌の辺縁部や、癌細胞がその周囲の組織すなわち周囲の脂肪組織内などに新たに浸潤しつつあると思われる個所は  $P^{32}$  の摂取が強い。

11) 壊死の部には  $P^{32}$  の摂取は殆んど認められな

い。併し癌細胞巢の中心が壊死に陥りその周囲のクロマチンに富む細胞群は、ピロニン好染顆粒も増加しており、特に強く  $P^{32}$  を摂取する。

12) 乳腺の急性炎症において炎症性の細胞の出現部は多量の  $P^{32}$  を摂取する。

稿を終るに当り、終始御懇切な御教示を賜った教室増田強三講師に謹んで深く感謝致します。事に臨み適切な御助言を載いた九間外喜雄博士並びに安藤卓爾博士に深謝いたします。

## 参 考 文 献

- 1) 青木貞章：癌組織の組織化学的研究(第1報)。癌, 43, 65, 1952.
- 2) 青木貞章：癌組織の組織化学的研究(第2報)。癌, 45, 223, 1954.
- 3) 青柳安誠, 増田強三：マストパチー(乳腺症)の診断と治療。実験治療, 269, 1, 1954.
- 4) Akamatsu, Y.: A Histological Study of Spontaneous and Transplanted Mammary Tumors Occurring in a Newly Segregated High Mammary Cancer Strain and Other Strains of Inbred Mice. Jap. Jour. Cancer Research, (Gann, in Japanese), 47, 105, 1956.
- 5) Caspersson, T. O., C. Nyström und L. Stan-tesson: Zytoplasmatische Nukleotide in Tumorzellen. Naturwiss, 29, 29, 1941.
- 6) Caspersson, T. & B. Thorell: Studies on Protein Metabolism in the Cells of Epithelial Tumours. Acta Radiol. Suppl. XLVI, 1942.
- 7) Dunn, T. B.: Morphology and Histogenesis of Mammary Tumors. A.A.A.S., 22, 13, 1945.
- 8) 藤森正雄：ホルモンと乳癌。協同医書, 1953.
- 9) 藤森正雄：乳腺症と乳癌。診療, 8, 403, 1955.
- 10) Francois, J., Neetons, A., Collette, J. E.: Microautographic Study of the Inner Wall of Schlemms Canal. Am. J. Ophth., 40, 491, 1955.
- 11) Fujisue, Y.: A Histological Study on Mastopathy (I). Mie Medical Journal., 61, 93, 1956.
- 12) 藤 木雄：乳腺症の病理組織学的研究(Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ)。大阪市立大学医学雑誌, 5, 587, 1956. 5, 593, 1956. 6, 58, 1957.
- 13) 淵上在弥： $P^{32}$  による乳癌の診断について。癌, 47, 471, 1956.
- 14) Hevesy, G.: Absorption and Translocation of Lead by Plants: A Contribution to the Application of the Method of Radioactive Indicators in the Investigation of the Change of Substance of Slants. Biochem. J., 17, 439, 1923.
- 15) Hevesy, G.: Radioactive Indicators. New York, Interscience, 1948.
- 16) Huseby, R. A., et al.: A Comparative Morpho-

- logical Study of the Mammary Glands with Reference to the Known Factors Influence to the Development of Mammary Carcinoma in Mice. *Cancer Research*, **6**, 240, 1946.
- 17) Holt, M. W., Cowing, R. F., Warren, S.: Preparation of Radioautographs of Tissues without Loss of Water-soluble  $P^{32}$ . *Science*, **328**, 110, 1949.
- 18) 細見泰三: 同位元素研究の動向一特に  $P^{32}$  を主とした一. 最新医学, **6**, 80, 1951.
- 19) Jones, H. B., Charikoff, I. L., & Lawrence, J. H.: Radioactive Phosphorus as an Indicator of Phospholipid Metabolism: Phospholipid Turnover of Fraternal Tumors. *J. Biol. Chem.*, **133**, 319, 1940.
- 20) Kenney, J. M., Marinelli, L. D., & Woodard, H. Q.: Tracer Studies with Radioactive Phosphorus in Malignant Neoplastic Disease. *Radiology*, **37**, 683, 1941.
- 21) 小暮照三: 乳癌の自然発生に関する実験的研究. 癌, **36**, 417, 1942.
- 22) 菊地武彦, 他: 生物学的試料中の放射性磷の測定法. 最新医学, **6**, 58, 1951.
- 23) Kirkham, W. R., Turner, C. W.: Nucleic Acids of the Mammary Glands of Rats. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **83**, 123, 1953.
- 24) 古関靖夫: オートラジオグラフィ. 納谷書店, 1954.
- 25) 小林節昭, 他:  $P^{32}$  による乳腺腫瘍の診断的価値について. 外科, **18**, 533, 1956.
- 26) Koshi, T.: Experimental Studies on the Histogenesis of Mammary Tumors and Sexual Hormones. *Arch. Jap. Chir.*, **27**, 323, 1958.
- 27) 九間外喜雄, 他: 放射性同位元素  $P^{32}$  の臨床的応用経験. 日本外科宝函, **28**, 966, 1959.
- 28) Lacassagne, A.: Hormonal Pathogenesis of Adenocarcinoma of the Breast. *Am. J. Cancer*, **27**, 217, 1936.
- 29) Lacassagne, A.: A Comparative Study of the Carcinogenic Action of Certain Oestrogenic Hormones. *Am. J. Cancer*, **28**, 735, 1936.
- 30) Lacassagne, A.: Relationship of Hormones and Mammary Adenocarcinoma in the Mouse. *Am. J. Cancer*, **37**, 414, 1939.
- 31) Low-Beer, B. V. A., Bell, H. G., McCorkle, H. J., & Stone, R. S.: Measurement of Radioactive Phosphorus in Breast Tumors in situ; Possible Diagnostic Procedure; Preliminary Report. *Radiology*, **47**, 492, Nov. 1946.
- 32) Low-Beer, B. V. A.: Surface Measurements of Radioactive Phosphorus in Breast Tumors as Possible Diagnostic Method. *Science*, **104**, 399, Oct. 25, 1946.
- 33) Low-Beer, B. V. A.: The Clinical Use of Radioactive Tracers. Springfield, 111., Charles C. Thomas, 1950.
- 34) Leblond, C. P., Stevens, C. E., Bogoroch, R.: Histological Localization of Newly-formed Deoxyribonucleic Acid. *Science*, **108**, 531, 1948.
- 35) Moskowitz, L.: Über den monatlichen Zyklus der Brustdrüse. *Arch. Klin. Chir.*, **142**, 374, 1926.
- 36) Moskowitz, L.: Sexualzyklus, Mastopathia und Geschwulstwachstum der Mamma. *Arch. f. Klin. Chir.*, **144**, 138, 1927.
- 37) Marinelli, L. D., & Goldschmidt, B.: Concentration of  $P^{32}$  in some Superficial Tissues of Living Patients. *Radiology*, **39**, 454, Oct. 1942.
- 38) Marinelli, L. D., Foote, F. W., Hill, R. F., & Hocker, A. F.: Retention of Radioactive Iodine in Thyroid Carcinomas; Histopathologic and Radioautographic Studies. *Am. J. Roentgenol*, **58**, 17, 1947.
- 39) 増田強三: マストパチーと性ホルモン. 診療, **6**, 891, 1953.
- 40) 増田強三: Mastopathie. 内分泌のつどい, 第8集, 346, 1956.
- 41) 増田強三: 乳腺腫瘍と性ホルモン. 日本臨床, **14**, 1522, 1956.
- 42) 増田強三: 乳癌と乳腺症 (マストパチー). 診療, **10**, 972, 1957.
- 43) 増田強三: 乳腺腫瘍の形態発生と内分泌. 臨床外科, **12**, 885, 1957.
- 44) 増田強三: 乳癌, マストパチー (乳腺症) の形態発生. 外科研究の進歩, 第7集, 31, 1958.
- 45) 増田強三: 腫瘍の成立と内分泌. 最新医学, **13**, 215, 1958.
- 46) 増田強三: 乳腺腫瘍の成立と性腺. 日本内分泌学会雑誌, **34**, 847, 1958.
- 47) 宮地 徹: 腫瘍における核酸の研究. 医学の進歩, 第7集, **1**, 1951.
- 48) 森 茂樹: ステロイドホルモンと腫瘍. ホルモンと臨床, **4**, 303, 1956.
- 49) 中山恒明: アイソトープによる癌の早期診断. 中外医学社, 1956.
- 50) 西村 豊: 家兎乳腺の組織化学的研究. 大阪大学医学雑誌, **10**, 643, 1958.
- 51) 大塚 淳, 他:  $P^{32}$  による乳癌の新診断法について. 癌, **47**, 474, 1956.
- 52) 大塚 淳, 他: 消化管癌腫のラジオ・オートグラフについて. 癌, **47**, 478, 1956.
- 53) 副島 謙: マストパチーに就いて. 日本外科宝函, **20**, 737, 1943.
- 54) Schmidt, G., & Thanhauser, S. J. A.: Method for the Determination of Deoxyribonucleic acid, Ribonucleic Acid and Phosphoproteins in Animal Tissues. *J. Biol. Chem.*, **161**, 293, 1945.
- 55) Siffert, R. S.: The Demonstration of  $P^{32}$  in Bone by Radioautography. *Science*, **108**, 445, 1948.

- 56) Schulmann, J., Falkenheim, M., & Gray, S. J.: The Phosphorus Turnover of Carcinoma of the Human Stomach as Measured with Radioactive Phosphorus. J. Clin. Investigation, **28**, 66, 1949.
- 57) 清水寛一: 乳腺機能に関する組織化学的研究. 総合研究報告集録生物農学編, 162, 1953.
- 58) 関野康男: 放射性同位元素  $P^{32}$  による乳癌の診断. 外科, **19**, 233, 1957.
- 59) 谷口積三, 他: 乳腺における前癌性変化の組織化学的研究. 臨床外科, **12**, 917, 1957.
- 60) 鶴上三郎: 乳腺機能に関する組織化学的研究. 科学, **21**, 223, 1951.
- 61) United States Atomic Energy Commission: Isotopes, an eight-year Summary of Distribution and Utilization with Bibliography. 1955.
- 62) 和田 卓, 他: 非活動期乳腺の組織化学的研究. 医学と生物学, **17**, 311, 1950.
- 63) 吉川春樹, 他: ラジオアイソトープの医学的応用. 東西医学社, 1953.
- 64) 山下久雄: アイソトープの医学的応用. 医学書院, 1954.